＊＊ 2012 年 6 月改訂 (第 8 版)
＊ 2011 年 12 月改訂 (第 7 版)

この使用説明書をよく読んでから使用してください

研究用試薬

FGF-23 測定試薬
FGF-23 ELISA Kit

＊【はじめに】

FGF-23 (Fibroblast Growth Factor-23) はFGFファミリーに属する251残基のアミノ酸からなる分子量約32kDaのタンパク質です。リン代謝を調節する新規のホルモン様分子として見出され、生体内ではN末端の24残基がシグナルペプチドとして脱落した分泌タンパク質が活性体として存在します。また、179と180残基の間にプロテアーゼによる切断部位があり、切断されたFGF-23は活性が消失していると考えられています。

FGF-23の異常が関係する疾患は、低リン血症性クル病や骨軟化症などがあり、特に腫瘍性骨軟化症では責任腫瘍がFGF-23を過剰に産生すること、常染色体優性低リン血症性クル病・骨軟化症では上述のプロテアーゼ切断耐性を持つ変異FGF-23タンパク質が産生されること、X染色体優性低リン血症性クル病では血中FGF-23濃度が上昇することが解明されています。また、腎不全において血中のFGF-23濃度が上昇することが確認されており、新たな疾患でのFGF-23の関与が注目されています。

【全般的な注意】

1) 本製品は研究用試薬です。診療上の診断に用いることはできません。
2) 使用説明書に記載以外の使用方法については保証を致しません。
3) 使用する機器の添付文書及び取扱説明書をよく読んでから使用してください。詳細は機器メーカーにお問い合わせください。

【形状・構造等（キットの構成）】

1. 抗体固相化プレート (FGF-23 Antibody coated Microplate: FGF-23 Microplate)：
   マウスモノクローナル抗ヒト FGF-23 抗体
2. 酵素標識抗体液 (HRP labeled FGF-23 Antibody: FGF-23 Conjugate)：
   ペルオキシダーゼ結合マウスモノクローナル抗ヒト FGF-23 抗体
3. 標準溶液 (FGF-23 Standards : FGF-23 Std 1～7)：
   リコンビナントヒト FGF-23
   1) 標準溶液1 (FGF-23 Std 1 : 0 pg/mL)
   2) 標準溶液2 (FGF-23 Std 2 : 10 pg/mL)
   3) 標準溶液3 (FGF-23 Std 3 : 50 pg/mL)
   4) 標準溶液4 (FGF-23 Std 4 : 100 pg/mL)
   5) 標準溶液5 (FGF-23 Std 5 : 250 pg/mL)
   6) 標準溶液6 (FGF-23 Std 6 : 500 pg/mL)
   7) 標準溶液7 (FGF-23 Std 7 : 800 pg/mL)
4. 希釈液 (Assay Diluent)
5. 発色液 (Color Reagent: Substrate) ：
   3,3',5,5'-テトラメチルベンジジン (TMBZ)、尿素過酸化水素
6. 洗浄原液 (Wash Buffer Concentrate: Wash Buffer (×5))
7. 反応停止液 (Stop Solution) ： 0.5 mol/L 硫酸
8. プレートシール (Plate Sealer)

【使用目的】

血清中のFGF-23の測定

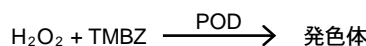
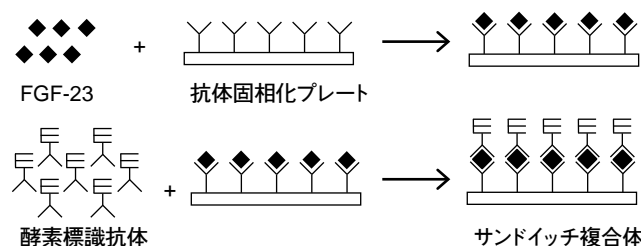
＊【測定原理】

1. 原理

本法は固相サンドイッチ法に基づいています。

検体中に抗原 (FGF-23) が存在すると、マイクロプレートに固相化されているマウスモノクローナル抗ヒトFGF-23抗体と結合します。さらにペルオキシダーゼ結合マウスモノクローナル抗ヒトFGF-23抗体 (酵素標識抗体) と反応させると、抗原をはさんだ3者のサンドイッチ複合体が形成されます。

固相に結合するペルオキシダーゼ (POD) の量は測定すべき抗原量に比例するので、尿素過酸化水素 (H_2O_2) 及び3,3',5,5'-テトラメチルベンジジン (TMBZ) を基質として用い、遊離するTMBZ酸化物 (発色体) を比色定量することにより、検体中のFGF-23濃度を求めます。

H_2O_2 + TMBZ —POD→ 発色体

2. 特徴
   1) 生理活性を持つ全長FGF-23を特異的に測定することができます。
   2) 最小検出感度は3 pg/mLと高感度です。
   3) 測定範囲が広く、800 pg/mLまで定量可能です。

＊＊＊【操作上の注意】

1. 測定試料の性質、採取方法
   1) 本製品による測定には、検体として血清を使用してください。
   2) 新鮮な検体を使用してください。検体の保存が必要な場合は凍結保存し、凍結融解の繰り返しは避けてください。
   3) 測定動物種として、ヒト以外にマウス、ラット、及びサルについて測定することができます。
2. 妨害物質・妨害薬剤[2)]
   1) アスコルビン酸 (100 mg/dLまで)、ビリルビン (50 mg/dLまで)、乳び (3000濁度まで)、リウマチ因子 (500 IU/mLまで) は測定値に影響を与えません。
3. その他
   1) 検量線は測定毎に作成してください。
   2) 多検体を測定する場合は、各試薬の添加間隔を一定にし、各反応時間を定められた時間に統一するよう注意してください。
   3) 洗浄操作時にウェルが乾燥しないように注意してください。
   4) ウェルの底面を傷付けたり汚したりしないように注意してください。

＊＊【用法・用量（操作法）】

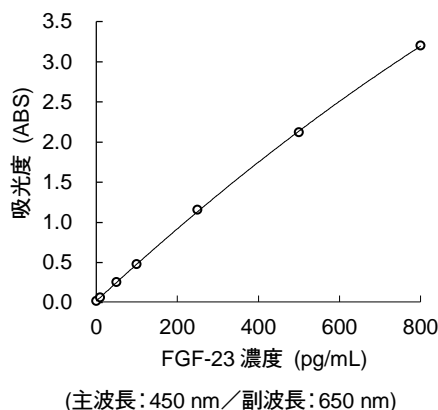
1. 試薬の調製方法
   1) 洗浄液：
      精製水を用いて洗浄原液 (Wash Buffer (×5)) を5倍希釈してください。
   2) 上記以外の試薬：
      そのまま使用してください。
2. 必要な器具・器材・試料等
   1) マイクロピペット、マルチチャンネルピペット、分注器
   2) プレートミキサー
   3) マイクロプレート用の汎用分光光度分析装置 (波長：450, 600～650 nm)

3. 測定法
   1) 抗体固相化プレート (FGF-23 Microplate) の各ウェルに希釈液 (Assay Diluent) を50 μLずつ加える。
   2) 標準溶液 (FGF-23 Std 1～7) 又は検体を50 μLずつ加える。
   3) プレートにシールをして、室温で2時間攪拌させる。
   4) 反応液を除去した後、各ウェルに洗浄液を300 μLずつ加え、洗浄液を除去する。この操作を4回行った後、ペーパタオル上で叩くなどしてウェル内に残った水滴を完全に除去する。
      注：ウェルを乾燥させないように、洗浄液の添加はマルチチャンネルピペット等で迅速に行ってください。
      注：ウェル内の液を除去する際に、ピペットの先端等でウェルの底を傷付けないように注意してください。
   5) 各ウェルに酵素標識抗体液 (FGF-23 Conjugate) を100 μLずつ加え、プレートにシールをして、室温で1時間攪拌させる。
   6) 4)と同じ操作を繰り返す。
   7) 各ウェルに発色液 (Substrate) を100 μLずつ加え、室温で30分間遮光して静置させる。
   8) 各ウェルに反応停止液 (Stop Solution) を100 μLずつ加え、軽く振とうさせ、10分以内に主波長450 nm、副波長600～650 nmで吸光度を測定する。

＊＊＊【測定結果の判定法】

1. 判定法
   濃度0～800 pg/mLの標準溶液 (FGF-23 Std 1～7) より作成した検量線から、検体のFGF-23濃度を読み取ってください。

2. 検量線例

(主波長：450 nm／副波長：650 nm)

3. 判定上の注意
   1) 検体の濃度が測定範囲を越える場合は、検体を標準溶液1 (Std 1) で希釈して再測定してください。
   2) 検体により、検体中の目的成分以外の物質との反応や妨害反応を生じることがあります。測定値や測定結果に疑問がある場合は、再検査や希釈再検査、または他の検査方法により確認してください。

【性能】

1. 同時再現性
   同一検体を5回同時に測定するとき、測定値のC.V.値は10.0%以下です。

2. 測定範囲： 3～800 pg/mL

＊【使用上又は取扱い上の注意】

1. 取扱い上 (危険防止) の注意
   1) 血清等の検体はHIV、HBV、HCV等の感染の危険性があるものとして取扱いには十分注意してください。また、検体に接触した器具等は検体と同様、感染の危険性のあるものとして取扱ってください。
   2) 検査にあたっては感染の危険を避けるため使い捨て手袋を着用してください。
   3) 感染を避けるため、口によるピペッティングを行わないでください。
   4) 試薬が誤って眼や口に入った場合は、水で十分に洗い流す等の応急処置を行い、必要があれば医師の手当を受けてください。特に、反応停止液には0.5 mol/Lの硫酸、発色液には尿素過酸化水素が含有していますので、取扱いには注意してください。

2. 使用上の注意
   1) 本製品は凍結を避け、貯法に従い保存してください。誤って凍結させた試薬は、品質が変化して正しい結果が得られないことがあるので使用しないでください。
   2) 開封後の試薬は、蓋をしめて2～10℃で遮光保存してください。
   3) ラベルに記載されている使用期限内に使用してください。
   4) 本製品は正確な値が得られるように組み合せてあるので、異なるロットの構成試薬を組み合せて使用しないでください。使用後の残液は使用しないでください。

3. 廃棄上の注意
   1) 検体に接触した器具、試薬及び試薬容器等は感染の危険があるものとして処理してください。
   2) 使用後の容器を廃棄する場合は、貴施設の廃棄物に関する規定に従って医療廃棄物又は産業廃棄物等を区別して処理してください。
   3) 本製品を廃棄する場合は、水質汚濁防止法等の関連法規に従って処理してください。
   4) 本製品が漏出又は飛散した場合は、少量のときは吸水紙等で拭き取り、大量のときは水で洗い流してください。
   5) 本製品にはケーソンCGを防腐剤として含有しています。廃棄する場合は大量の水と共に流してください。

【貯蔵方法・有効期間】

貯蔵方法 ： 2～10℃ 遮光保存
有効期間 ： 12ヵ月 (使用期限は容器ラベル及び外箱に表示)

【包装単位】

製品名		管理コード	包装
FGF-23 ELISA Kit	FGF-23 Microplate	CY-4000	96 well × 1
	FGF-23 Conjugate		12 mL× 1
	FGF-23 Std 1		12 mL× 1
	FGF-23 Std 2～7		各0.5 mL× 1
	Assay Diluent		12 mL× 1
	Substrate		12 mL× 1
	Wash Buffer (×5)		90 mL× 1
	Stop Solution		12 mL× 1
	Plate Sealer		3枚

＊【主要文献】

1) Yuji Yamazaki : J Clin Endocriniol Metab, 87, 11 : 4957-4960 (2002)
2) 株式会社カイノス 社内データ

【問い合わせ先】

株式会社カイノス 学術部
〒113-0033 東京都文京区本郷2-38-18
☎ 03 (3816) 4480　　FAX 03 (3816) 6544

製造販売元

〒113-0033　東京都文京区本郷2-38-18　☎ 03 (3816) 4485